



اثر ال-آرژنین بر استرس اکسیداتیو-نیتروزاتیو احتمالی ناشی از فعالیت ورزشی حاد در کبد موش نر ویستار

معصومه کاظمی^{۱*}، سید محمد مرنندی^۲، احمد موحدیان عطار^۳، حسین محمدیان^۴، حمیدرضا شریفی جبلی^۵

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱/۱۶

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۹/۱۷

چکیده

هدف: هدف از پژوهش حاضر بررسی اثر مکمل دهی ال-آرژنین بر تغییرات استرس اکسیداتیو-نیتروزاتیو احتمالی ناشی از فعالیت ورزشی حاد در کبد موش بود.

روش‌شناسی: ۳۲ سر موش صحرایی نر با وزن تقریبی (۲۱۰-۱۶۰)g به صورت تصادفی به چهار گروه کنترل، ورزش حاد (E)، مکمل ال-آرژنین (Arg) و ورزش حاد+مکمل ال-آرژنین (E+Arg)، تقسیم شد. ال-آرژنین به میزان ۰/۰۲g رژیم غذایی به دو گروه Arg و E+Arg طی ۳۰ روز گاوژ شد. برای اعمال فعالیت ورزشی حاد دو گروه E و E+Arg با سرعت ۱۶-۲۶ متر بر ثانیه، به مدت ۱ ساعت و یا تا رسیدن به واماندگی بر روی تردمیل مخصوص دویدند. بافت برداری ۱ ساعت پس از فعالیت ورزشی حاد صورت گرفت. جهت محاسبه نسبت اکسیدان-آنتی اکسیدان، وضعیت اکسیدانی تام و ظرفیت آنتی اکسیدانی تام، به ترتیب با روش‌های FRAP و FOX-1 اندازه‌گیری شد. میزان نیتریک اکساید از روش گریس اندازه‌گیری شد. برای مقایسه میانگین‌ها آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (ANOVA) استفاده شد.

یافته‌ها: میانگین بالانس اکسیدان/آنتی اکسیدان گروه‌های کنترل، ورزش حاد، مکمل، مکمل + ورزش حاد به ترتیب $۰/۹۱ \pm ۰/۱۲$ ، $۰/۹۱ \pm ۰/۱۲$ ، $۰/۹۲ \pm ۰/۰۴$ و $۰/۹۱ \pm ۰/۰۹$ به دست آمده است. با وجود بیشتر بودن میانگین گروه کنترل نسبت به گروه‌های دیگر، ولی نتایج تحلیل واریانس نشان می‌دهد این تفاوت معنی‌دار نیست. همچنین میزان نیتریک اکساید موش‌های گروه کنترل با میانگین $۹/۰۱ \pm ۶/۳۱$ از سه گروه دیگر بیشتر است، اما نتایج تحلیل واریانس نشان می‌دهد تفاوت معنی‌داری بین میزان نیتریک اکساید موش‌های گروه کنترل با هر یک از سه گروه آزمایش وجود ندارد.

نتیجه‌گیری: طبق یافته‌های تحقیق حاضر، نسبت اکسیدان-آنتی اکسیدان (TOS/TAC) و همچنین میزان نیتریک اکساید ۱ ساعت پس از ورزش حاد و به دنبال مصرف مکمل ال-آرژنین در هیچ‌یک از گروه‌ها تغییر معنی‌داری نداشت.

واژگان کلیدی: فعالیت ورزشی حاد، استرس اکسیداتیو-نیتروزاتیو، بالانس اکسیدان-آنتی اکسیدان، نیتریک اکساید، ال-آرژنین.

۱. کارشناس ارشد فیزیولوژی ورزشی، ۲. دانشیار دانشگاه اصفهان، ۳. استاد دانشگاه اصفهان، ۴. دانشجوی دکتری

بیوتکنولوژی دارویی، ۵. تکنسین دامپزشکی

*نشانی الکترونیک نویسنده مسئول: kazemimasume@gmail.com

مقدمه

حاد رخ دهد. این موارد شامل تنفس میتوکندریایی (نشت الکترون از زنجیره انتقال الکترون و تولید متعاقب رادیکال سوپراکسید)، متابولیسم پروستاگلندین، خود اکسیداسیونی کاتکولامین‌ها، و فعالیت آنزیمی NADPH اکسیداز و گزانتین اکسیداز می‌باشند. افزایش اولیه در RONS طی ورزش و همچنین به دنبال توقف آن، می‌تواند به تولید ثانویه پراکسیدان‌های اضافی منجر شود (۱۲).

سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن ترکیبات مختلف آنزیمی (آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و...) و غیر آنزیمی (ویتامین E، C و A) را شامل می‌شود که در پیشگیری و یا کاهش فشارها و آسیب‌ها، پس از فعالیت بدنی نقش دارد. هر یک از این ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، نقش منحصربه‌فردی دارند و برآیند آن‌ها تحت عنوان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (TAC)^۲ بدن نامیده می‌شود (۱). کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی، محافظت در برابر ROS و RNS را مختل می‌کند و از طریق آسیب رسیدن به دیواره سلول‌ها، میتوکندری‌ها، DNA و پروتئین‌های عملکردی، اختلال در سلول، و حتی آپوپتوزیس^۳ یا مرگ سلول را ممکن است در پی داشته باشد (۱۹). سلول‌های پستانداران به هر دو سیستم آنزیمی و غیر آنزیمی مجهز هستند و بدین طریق، RONS را حذف می‌کنند. آسیب با کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، به‌عنوان جاذب رادیکال‌های آزاد در وضعیت استرس اکسیداتیو، ایجاد می‌شود (۲۰). استرس اکسیداتیو-نیتروزاتیو زمانی

اگرچه ورزش دارای آثار سودمندی است اما ورزش شدید(حاد) می‌تواند موجب آسیب مورفولوژیکی به عضلات اسکلتی درگیر در فعالیت و ارگان‌های دیگر شود. آسیب بافتی ناشی از ورزش حاد یا مزمن از آسیب فیبری قابل‌توجهی به آسیب تحت سلولی منتهی می‌شود. چنین آسیبی ممکن است از استرس اکسیداتیو ناشی از گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) باشد، که بسته به نوع اندام یا بافت و سطح آنتی‌اکسیدانی درون‌زا پاسخ‌های مختلف به وجود می‌آورد. افزایش سطح پراکسیداسیون لیپیدی پس از ورزش با حداکثر سرعت دویدن در نمونه‌های خون ورزشکاران سرعتی و در عضله اسکلتی موش‌ها پس از حداکثر سرعت دویدن و ورزش حاد شناسایی شده‌اند (۲۲).

رادیکال آزاد اتم یا مولکولی است که با داشتن یک یا چند الکترون جفت نشده و قابلیت تکثیر در بیشتر سلول‌ها، توانایی آسیب به بافت‌های مختلف را دارد (۳). نوع ورزش، شدت و طول مدت آن، و همچنین نمونه‌های مورد آزمایش، همه می‌تواند میزان اکسایش سلولی را تحت تأثیر قرار دهند (۱۲). تولید بیش‌ازحد گونه‌های فعال اکسیژن و نیتروزن (RONS)^۱ در واقع می‌تواند از قرار گرفتن در معرض انواع محرک‌ها، از جمله، استرس‌های جسمانی مانند ورزش‌های هوازی و بی‌هوازی حاد، و همچنین مصرف و پردازش انرژی در بدن، ایجاد شود (۱۱). تولید RONS و استرس اکسیداتیو-نیتروزاتیو حاد می‌تواند از طریق چند مسیر، در پاسخ به ورزش

1. Reactive Oxygen and Nitrogen Species

2. Total Antioxidant Capacity
3. Apoptosis

ضروری می‌باشد. به‌عنوان پیش ماده برای کراتین است، که نقش مهمی در متابولیسم انرژی عضلانی و اعصاب بازی می‌کند (۲۴). نیتریک اکساید سنتتاز به آرژنین برای سنتز NO نیاز دارد (۷). تغییرات غلظت آرژنین، ممکن است تولید و فعالیت NO را تحت تأثیر قرار دهد. برخی مطالعات نشان داده‌اند که یک رژیم با مکمل دهی ال-آرژنین به‌طور قابل توجهی استرس اکسیداتیو قلبی و ریوی در طول ورزشی درمانده ساز در موش‌های صحرایی جوان SD^۲ را کاهش می‌دهد (۱۷، ۱۸). از طرفی با توجه به آثار مخرب NO در غلظت‌های بالا، NO تولیدشده بر اثر تمرین، احتمال دارد به سلول صدمه بزند (آثار سیتوتوکسیک^۳، سیتواستاتیک^۴ نیتریک اکساید) زیرا می‌دانیم علاوه بر آثار فیزیولوژیکی مفیدی که NO در بدن دارد، چنان‌که غلظت آن از حد طبیعی بالاتر رود، احتمالاً به‌عنوان یک عامل محدودکننده فعالیت، می‌تواند عملکرد ورزشی را تحت تأثیر قرار دهد. برای مثال، افزایش بیش از حد NO مانع از مصرف اکسیژن و متعاقب آن کاهش ظرفیت هوایی می‌شود (۴). در این راستا افزایش استرس اکسیداتیو-نیتروژاتیو با مکمل دهی ال آرژنین، در موش‌های دارای مشکل کلیوی (۱۳)، در مطالعه‌ای دیگر کاهش تولید نیتریک اکساید و آسیب اکسایشی حاصل از آن در مکمل‌گیری آنتی‌اکسیدانی به دنبال یک جلسه تمرین مقاومتی دایره‌ای در مردان تمرین نکرده گزارش شده است (۵).

اتفاق می‌افتد که یک عدم تعادل در دفاع آنتی‌اکسیدانی با توجه به افزایش تولید ROS و RNS وجود داشته باشد که ممکن است با کاهش غلظت آنتی‌اکسیدان در بدن و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ایجاد شود (۱۹). ورزش بر اساس تئوری هورمز عمل می‌کند، این تئوری ادعا می‌کند سیستم‌های بیولوژیک به شکل یک منحنی زنگوله‌ای شکل دوز- پاسخ، با در معرض قرارگیری مواد شیمیایی، مواد سمی و تابش پاسخ می‌دهد. یعنی عدم ورزش و فعالیت یا تمرین شدید اثرات مخربی به همراه داشته و برعکس تمرین منظم اثرات سودمندی در پی خواهد داشت. گونه‌های واکنشی بر اساس تئوری هورمز عمل می‌کنند. اگرچه سطوح بالای رادیکال‌های آزاد موجب آسیب مؤلفه‌های سلولی می‌شوند، اما سطوح متوسط تا پایین اکسایش‌ها، چندین نقش تنظیمی در سلول مانند کنترل بیان ژنی و تنظیم مسیر پیام‌دهی سلولی دارد. از مهم‌ترین گونه‌های واکنشی که بر اساس تئوری هورمز عمل می‌کند نیتریک اکساید^۱ می‌باشد (۲).

NO یکی از مهم‌ترین و گسترده‌ترین زمینه‌های مورد مطالعه RNS می‌تواند منجر به کاهش یا اکسایش شده و در نتیجه یک سری از ترکیبات که در مجموع به‌عنوان گونه‌های نیتروژن واکنش‌پذیر خوانده می‌شوند، ایجاد کند. چنان‌که غلظت آن از حد طبیعی بالاتر رود، احتمالاً به‌عنوان یک عامل محدودکننده فعالیت، می‌تواند عملکرد ورزشی را تحت تأثیر قرار دهد (۲۱، ۲۳).

ال-آرژنین اسیدآمینهای نیمه ضروری است که بسته به مرحله رشد و وضعیت سلامتی فرد

2. Sprague-Dawley

۳. اثر سمی روی سلول

۴. مانع تولیدمثل سلول

1. Nitric oxide(NO)

وارده از طریق گاوآژ به موش‌های دو گروه دیگر طی این ۳۰ روز آب گاوآژ می‌شد. دو هفته قبل از روز آزمایش، موش‌های تمامی گروه‌ها ۲ روز در هفته به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۶ متر در دقیقه در هر روز بر روی نوار گردان مخصوص موش‌های صحرایی می‌دویدند، برای وادار کردن حیوان به دویدن، از شوک الکتریکی خفیف در قسمت انتهایی نوارگردان استفاده می‌شد. این دو هفته تمرین برای این منظور طراحی شد که موش‌ها با تردمیل و دویدن بر روی آن آشنا شوند. حیوانات در قفس‌های پلی کربنات شفاف نگهداری می‌شدند. در نهایت گروه‌های ورزش حاد و مکمل + ورزش حاد در روز آزمایش نهایی، با شدت تمرینی ۲۶-۱۶ متر در دقیقه برای ۱ ساعت و یا تا رسیدن به واماندگی بر روی تردمیل دویدند. ملاک خستگی عدم توان موش در حفظ قامت در مسیر مستقیم و ادامه دویدن با سرعت تردمیل (عقب نماندن) بود (۱۵). یک ساعت پس از انجام کار (۲۲)، موش‌ها از طریق استنشاق ماده اتر (۱۴)، بی‌هوش شدند.

نمونه‌گیری بافت کبد

پس از تأیید بیهوشی، برشی به طول ۳-۴ سانتی‌متر در ناحیه شکم جانور ایجاد شد، پس از باز کردن پوست، قسمتی از بافت کبد جدا شد و داخل ظرف مخصوص نگهداری بافت، بر روی یخ قرار داده شد. بافت آماده‌شده جهت هموزن به یخچال ۲۰- منتقل شد. پس از شستشوی بافت با سرم فیزیولوژی، تکه‌ای از آن جدا شده و به نسبت ۴ به ۱ به ترتیب از فسفات بافر و بافت کبد جهت هموزن استفاده شد. با استفاده از تعدادی گویچه شیشه‌ای (پرل)، طی یک دقیقه با استفاده از هموزنایزر MS-100، بافت آماده شد.

به اعتقاد متخصصین تعادل مناسب بین رادیکال‌های آزاد و آنتی‌اکسیدان‌ها برای سلامتی و فعالیت بهینه لازم است (۱۲). بنابراین، این فرضیه مطرح است که مکمل ال-آرژنین ممکن است استرس اکسیداتیو-نیتروزاتیو احتمالی ناشی از ورزش وامانده ساز را تحت تأثیر قرار داده و یا بر بافت‌های مهم تأثیرپذیر از فعالیت ورزشی حاد، چون کبد اثر داشته باشد. در این تحقیق، بررسی می‌کنیم که آیا مکمل ال-آرژنین می‌تواند آسیب احتمالی اکسیداتیو-نیتروزاتیو که در بافت کبدی به علت ورزش وامانده ساز در موش ممکن است رخ دهد، تحت تأثیر قرار دهد.

روش پژوهش

۳۲ سر موش ۴-۳ هفته‌ای با وزن تقریبی ۲۱۰-۱۶۰ گرم خریداری شد. جامعه تحقیق را موش‌های صحرایی نر نژاد ویستار^۱ تشکیل می‌دادند که از حیوان خانه دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان تهیه شد. موش‌ها در لانه حیوانات دانشکده داروسازی، تحت شرایط کنترل شده نور (۱۲ ساعت روشنایی، ۱۲ ساعت تاریکی)، دما (23 ± 1 درجه سانتی‌گراد) و رطوبت (50 ± 3 درصد) در قفس‌های مخصوص نگهداری شدند. موش‌ها آزادانه به آب و غذای استاندارد دسترسی داشتند و در سرتاسر دوره تحقیق، توسط یک کارشناس جابجا می‌شدند. پس از تقسیم موش‌های صحرایی به ۴ گروه، به گروه‌های مکمل و مکمل + ورزش طی ۳۰ روز به میزان ۲٪ رژیم غذای روزانه مکمل ال-آرژنین (محصول شرکت داروسازی و مکمل‌های غذایی-حیاتی کارن) گاوآژ شد. جهت کنترل استرس

اندازه‌گیری میزان نیتریک اکساید در کبد:

به دلیل کوتاه بودن نیمه‌عمر نیتریک اکساید، اندازه‌گیری مستقیم آن نسبتاً مشکل است، لذا اندازه‌گیری آن با استفاده متابولیت‌های پایدارش صورت می‌گیرد. این سنجش تخمین قابل‌اطمینانی از برون ده نیتریک اکساید در محیط *in vivo* فراهم می‌آورد. همبستگی بالایی بین تولید نیتریک اکساید درون‌زا و

سطوح نیتريت/نیترات (NO^x) در سرم، پلاسما و ادرار گزارش شده است. ساده‌ترین و رایج‌ترین روش اندازه‌گیری این آنیون‌ها روش رنگ‌سنجی بر مبنای واکنش گریس‌آمی‌باشد. اساس این واکنش تشکیل رنگ از دی‌آزوتاسیون^۴ یک سولفانامید به کمک نیتريت در محیط اسیدی و مثل NEDD (N-(1-ethylenediamine) naphthyl)) می‌باشد (۶).

روش‌های آماری

پس از ورود داده‌ها به نرم‌افزار SPSS، توزیع طبیعی داده‌ها به وسیله آزمون شاپیرو-ویلک بررسی شد. میانگین و انحراف معیار هر یک از شاخص‌های بیوشیمیایی محاسبه و نتایج مربوط با استفاده از تحلیل واریانس تک‌راهه بین گروه‌های مذکور در سطح معنی‌داری $P \leq 0/05$ ، مورد مقایسه قرار گرفت.

یافته‌های پژوهش

در جدول ۱ اطلاعات آماری مربوط به میزان نیتریک اکساید و نسبت TOS/TAC در گروه‌های کنترل، ورزش‌حاد، مکمل و مکمل+ورزش به‌صورت میانگین و انحراف معیار ارائه شده است. نتایج حاصل نشان می‌دهد که نسبت اکسیدان-

میکروتیوب‌ها با استفاده از یخ کاملاً سرد شدند؛ و در نهایت توسط سانتریفوژ یخچال دار به مدت ۱۵ دقیقه، در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با دور 13000 rpm سانتریفوژ شدند. سوپرناتانت، با سمپلر برداشته شد و جهت اندازه‌گیری میزان پروتئین بافتی و سایر اندازه‌گیری‌ها تمامی نمونه‌های آماده‌شده به یخچال -20°C منتقل شدند.

نحوه سنجش TOS : برای اندازه‌گیری

TOS به روش FOX-1^۱، معرف FOX-1، زایلینول ارینج ۱۰۰ میکرومولار، آمونیوم فرسولفات ۲۵۰ میکرومولار، سوربیتول ۱۰۰ میکرومولار، و اسید سولفوریک ۲۵ میلی مولار تهیه گردید. ۵۰ میکرولیتر از نمونه در یک میکروتیوب اپندورف ۱/۵ میلی لیتر به ۹۵۰ میکرولیتر از معرف FOX-1 افزوده و ورتکس شد و برای ۳۰ دقیقه در انکوباتور ۴۰ درجه سانتی‌گراد (بدون CO_2) انکوبه گردید. جذب نمونه‌ها در ۵۶۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر، خوانده شد (نمونه‌ها تیره‌رنگ می‌شود).

نحوه سنجش TAC: روش FRAP^۲ بر اساس

توانایی پلاسما در احیای یون‌های Fe^{3+} (فریک) به Fe^{2+} در حضور ماده‌ای به نام TPTZ استوار است و کمپلکس Fe^{2+} -TPTZ کمپلکس آبی رنگ با ماکزیمم جذب در طول موج ۵۹۳ nm است که میزان قدرت احیاکنندگی سرم یا پلاسما از طریق افزایش غلظت کمپلکس فوق توسط دستگاه اسپکتروفتومتر را به دست می‌دهد (۱۰).

آنتی اکسیدان و همچنین میزان نیتریک اکساید ۱
 ال-آرژنین در هیچ یک از گروه‌ها تغییر معنی داری
 نداشت. ساعت پس از ورزش حاد و به دنبال مصرف مکمل

جدول ۱. اثر ال-آرژنین بر میزان نیتریک اکساید، اکسیدان/آنتی اکسیدان و کراتین کیناز در کبد موش نر به دنبال فعالیت ورزشی حاد

متغیر	کنترل	ورزش حاد	مکمل	مکمل+ورزش حاد
نیتریک اکساید میکرومول/میلی گرم ^{-۵} ×۱۰	۹/۰۱±۶/۳۱	۴/۱۳±۱/۰۵	۳/۶۹±۱/۴۸	۴/۱۱±۱/۳۷
اکسیدان/آنتی اکسیدان میلی مول/میلی گرم	۳/۶۵±۴/۴۹	۰/۹۱±۰/۱۲	۰/۹۲±۰/۰۴	۰/۹۱±۰/۰۹

جدول ۲. تحلیل واریانس یک راهه متغیرهای نیتریک اکساید، اکسیدان/آنتی اکسیدان

متغیر	آماره آزمون F	سطح معنی داری
نیتریک اکساید	۳/۴۱۶	۰/۰۹
اکسیدان/آنتی اکسیدان	۲/۶۰۱	۰/۱۴۷

بحث و نتیجه گیری

در مطالعه حاضر، با یک دوره مکمل دهی ال-آرژنین تغییر معنی داری در اندازه نسبت اکسیدان به آنتی اکسیدان و میزان نیتریک اکساید، یک ساعت پس از فعالیت ورزشی حاد، در هیچ یک از گروه‌های مورد مطالعه مشاهده نشد. همان طور که پیش تر بیان شد، در حالی که تمرین ورزشی منظم موجب کاهش آسیب اکسایشی می شود، یک وهله فعالیت ورزشی که از شدت و مدت زمان کافی برخوردار باشد موجب آسیب ماکرو مولکول‌های سلولی مانند لیپیدها، پروتئین‌ها و ساختارهای ژنومی می شود. با این حال، در مورد این که چه عامل یا عواملی باعث کاهش آسیب اکسایشی ناشی از تمرین ورزشی می شود دو فرض مطرح است که یکی به افزایش کارآمدی برداشت گونه‌های نیتروژن و اکسیژن واکنشی می پردازد. در این فرض چنین بیان می شود که تمرین ورزشی از طریق تنظیم

افزایشی آنزیم‌های ضد اکسایشی، موجب برداشت گونه‌های رادیکالی از محیط عمل می شود. تمرین ورزشی حاد (تمرین برای یک دوره زمانی محدود) و مزمن (چندین سال تمرین منظم) هر دو موجب تنظیم افزایشی آنزیم‌های ضد اکسایشی در سلول‌ها و بخش‌های مختلف بدن می شوند. پیام اولیه که موجب تغییر و تعدیل طولانی مدت می شود، از وهله فعالیت ورزشی منفرد نشأت می گیرد. بر اساس این فرض فشار اکسایشی ناشی از هر وهله مجزای فعالیت ورزشی، از طریق فعال سازی عوامل رونویسی موجب تنظیم افزایشی آنزیم‌های ضد اکسایش می شود (۲). با توجه به این توضیحات و بر اساس اصل هورمز که یک جلسه فعالیت ورزشی حاد، موجب استرس اکسیداتیو حاد می شود، و نتیجه آن تقویت سیستم دفاعی بوده است (۱)، می توان عدم تغییر بالانس اکسیدان/

توأم با رژیم غذایی و طول دوره مکمل دهی مربوط دانست؛ احتمالاً مقدار ال-آرژنین مصرفی در شرایط محیط زنده دارای آستانه باشد، به طوری که مقدار بالا امکان جذب و انتقال سیستم‌های انتقالی را به داخل سلول ندهد و در مقدار پایین آن، به علت زیر آستانه بودن فعالیت ال-آرژنین، با کاهش سوستر، نتواند تأثیر مناسبی در تولید NO ایجاد کند (۴).

طبق یافته‌های پژوهش حاضر، یک دوره مکمل دهی ال-آرژنین هیچ‌گونه تغییر معنی‌داری در میزان ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام و میزان نیتریک اکساید ایجاد نکرد؛ به عبارتی افزایش یا کاهش استرس اکسیداتیو-نیتروزاتیو ۱ ساعت پس از فعالیت ورزشی حاد به دنبال یک دوره مکمل دهی ال-آرژنین در کبد تأیید نشد. به نظر انجام تحقیقاتی مشابه، در جهت تعیین تغییرات احتمالی در استرس اکسیداتیو-نیتروزاتیو ضروری باشد.

تشکر و قدردانی

بدین‌وسیله از مسئولان محترم دانشکده داروسازی دانشگاه علوم پزشکی اصفهان که در هموار کردن مسیر اجرای این پژوهش نقش بسزایی داشتند و همچنین شرکت داروسازی و مکمل‌های غذایی-حیاتی کارن، صمیمانه تشکر می‌نمایم.

آنتی‌اکسیدان را به افزایش یکی در مقابل دیگری نسبت داد.

در پژوهش پائولا و همکاران (۲۲)، به دنبال ورزش حاد، علی‌رغم گزارش استرس اکسیداتیو-نیتروزاتیو با افزایش میزان نیتريت و پراکسیداسیون لیپیدی در بافت‌های مختلف کبد، عضله و مغز، زمان پاسخ اندام‌ها به ورزش حاد را متفاوت اعلام کرده‌اند. چراکه افزایش میزان نیتريت در کبد ۶ ساعت و در عضله ۱ ساعت پس از فعالیت ورزشی حاد گزارش شده است. که با نتایج پژوهش حاضر همسو نمی‌باشد. عدم همسویی با نتایج پژوهش حاضر احتمالاً می‌تواند به زمان متفاوت نمونه‌برداری مربوط باشد.

از طرفی ممکن است مسیر مهار و یا سرکوب گزانتین اکسیداز^۱ توسط NO فعال شده باشد. XO یک متالوفلاووپروتئین^۲ است که می‌تواند منجر به تولید سوپراکسید و هیدروژن پراکسید شود و به‌عنوان مکانیسم اصلی تولید رادیکال آزاد در برخی شرایط مانند تمرین ورزشی حاد یا بی‌هوای می‌باشد. کاهش گزانتین اکسیداز، احتمالاً به کاهش مکانیسم تولید رادیکال‌های آزاد منجر شود. برخی تحقیقات کاهش میزان XO و افزایش برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با مصرف ال-آرژنین را گزارش کرده‌اند (۱۴). طبق گزارش کزیم و همکاران (۲۰۱۲) شاید بتوان عدم‌تغییر و یا کاهش NO را به خاصیت آنتی‌اکسیدانی و مصرفش در این زمینه نسبت داد (۱۶).

همچنین عدم‌تغییر NO با مصرف ال-آرژنین را می‌توان به تفاوت در میزان دوز مصرفی و آرژنین

1. Xanthine oxidase(xo)
2. Metalloflavoprotein

منابع

۱. افضل پور محمد اسماعیل، ثاقب جو مرضیه، زبان اصغر، جانی مهدی، (۱۳۹۱)، مقایسه تأثیر یک جلسه فعالیت حاد مقاومتی و هوازی بر دستگاه دفاعی آنتی‌اکسیدانی و پراکسیداسیون لیپیدی در مردان جوان سالم، ورزش و علوم زیست حرکتی، ۲: ۳۹-۵۰.
۲. افضل پور محمد اسماعیل، چادرنشین حسین، (۱۳۹۳)، فعالیت بدنی و فشار اکسایشی، چاپ دوم، تهران، بامداد کتاب، ۱۲۹ و ۴۵.
۳. بقایی بهروز، ترتیبیان بختیار، برادران بهزاد، (۱۳۹۰)، بررسی ارتباط آنتی‌اکسیدان تام با آنزیم کراتین فسفو کیناز و پراکسید هیدروژن در دختران ورزشکار؛ تحت تأثیر تمرینات شدید ورزشی، علوم پزشکی رازی، ۹۵: ۳۵-۴۳.
۴. خسروی نیکو، قراخانلو رضا، گایینی عباسعلی، یغمایی بهرام، (۱۳۸۳)، اثر یک برنامه تمرین استقامتی بر مقدار نیتریک اکساید پلاسمایی با دریافت مکمل ال-آرژنین در موش سفید، المپیک، ۳: ۹۹-۱۱۴.
۵. فلاح محمدی ضیا، دبیدی روشن ولی‌الله، کانعمتی حسین، (۱۳۹۰)، اثر مصرف مکمل ویتامین E بر تغییرات نیتریک اکساید، LDH و CPK پلاسمای مردان غیرفعال به دنبال یک جلسه تمرین مقاومتی، فصلنامه المپیک، ۳: ۳۵-۴۶.
۶. قاسمی اصغر، هدایتی مهدی، بیابانی حامد، خوش‌باطن علی، عسگری علیرضا، (۱۳۸۶)، مقایسه روش‌های پروتئین زدایی در سنجش نیتریک اکساید سرمی به روش گریس. پژوهش در پزشکی، ۱: ۳۳-۳۷.
۷. میرفتاحی مریم، ساعدی صومعه علیا، احمد، ستوده گیتی، مهاجری تهرانی محمدرضا، کشاورز سیدعلی، حسینی مصطفی، سیفی راد سروش، (۱۳۹۱)، بررسی اثر مکمل یاری ال-آرژنین بر فشارخون افراد مبتلا به پیش دیابت دارای اضافه‌وزن، مجله دیابت و لیپید ایران، ۴: ۳۹۳-۳۹۹.
۸. نوری موگهی سید محمدحسین، مینایی باقر، مهران نیا طوبی، آذرنیا مهناز، شیرازی رضا، (۱۳۸۸)، بررسی اثرات کمی و کیفی L-Arginine و L-Name بر جسم زرد و فولیکول‌های در حال رشد تخمدان موش صحرائی باردار، مجله علمی دانشگاه علوم پزشکی ایلام، ۴: ۱-۸.
۹. هارونی، هومن، اسحق نقدی ناصر، حائری روحانی علی، سپهری حوری، (۱۳۸۸)، بررسی نقش نیتریک اکساید هیپوکامپی در یادگیری احترازی غیرفعال. انجمن فیزیولوژی و فارماکولوژی ایران، ۱: ۱-۹.
10. Benzie IF, and Strain J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power: the FRAP assay, *Analytical biochemistry*. 239: 70-76.
11. Bloomer RJ, and Fisher-Wellman KH. (2009). Systemic oxidative stress is increased to a greater degree in young, obese women following consumption of a high fat meal. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2:19-25.
12. Fisher-Wellman K, and Bloomer RJ. (2009). Acute exercise and oxidative stress: a 30 year history. *Dynamic Medicine*, 8:1-25.
13. Huang H-S, Ma M-C, and Chen J. (2008). Chronic L-arginine administration increases oxidative and nitrosative stress in rat hyperoxaluric kidneys and excessive crystal deposition. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 295:388-396.

14. Huang C-C, Tsai S-C, and Lin W-T. (2008). Potential ergogenic effects of L-arginine against oxidative and inflammatory stress induced by acute exercise in aging rats. *Experimental gerontology*, 43:571-577.
15. Ji L, Gomez-Cabrera M, Steinhafel N, and Vina J. (2004). Acute exercise activates nuclear factor (NF)- κ B signaling pathway in rat skeletal muscle. *The FASEB journal*, 18:1499-1506.
16. Kazeem A, Olubayo A, and Ganiyu A. (2012). Plasma Nitric Oxide and Acute Phase Proteins after Moderate and Prolonged exercises. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 15:602-607.
17. Lin W-t, Yang S-c, ChenK-t, Huang C-c, and Lee N-y. (2005). Protective effects of L-arginine on pulmonary oxidative stress and anti-oxidant defenses during exhaustive exercise in rats, *Acta Pharmacologica Sinica*. 26:992-999.
18. Lin W-T, Yang S-C, Tsai S-C, Huang C-C, and Lee N-Y. (2006). L-Arginine attenuates xanthine oxidase and myeloperoxidase activities in hearts of rats during exhaustive exercise, *British Journal of Nutrition*. 95:67-75.
19. Maes M, Galecki P, Chang YS, and Berk M. (2011). A review on the oxidative and nitrosative stress (O&NS) pathways in major depression and their possible contribution to the (neuro) degenerative processes in that illness, *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*. 35:676-692.
20. Noeman SA, Hamooda HE, and Baalash AA. (2011). Biochemical study of oxidative stress markers in the liver, kidney and heart of high fat diet induced obesity in rats, *Diabetol Metab Syndr*. 3:17-25.
21. Novo E, and Parola M. (2008). Redox mechanisms in hepatic chronic wound healing and fibrogenesis. *Fibrogenesis & tissue repair*, 1:5-62.
22. Paula FB, Gouvêa CM, Alfredo PP, Salgado I. (2005). Protective action of a hexane crude extract of *Pterodon emarginatus* fruits against oxidative and nitrosative stress induced by acute exercise in rats. *BMC complementary and alternative medicine*, 5:17-26.
23. Rogstam A, Larsson JT, Kjelgaard P, von Wachenfeldt C. (2007). Mechanisms of adaptation to nitrosative stress in *Bacillus subtilis*. *Journal of bacteriology*, 189:3063-3071.
24. Tapiero H, Mathe G, Couvreur P, Tew K. I. (2002). L-Arginine. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 56:439-445.



Action of L-Arginin on oxidative-nitrosative stress induced by acute exercise in liver of rats

Kazemi M^{1*}, Marandi SM², Movahedian Attar A³, Mohammadian H⁴, Sharifi Jebeli HR⁵

Received: 5/4/2015

Accepted: 8/12/2015

Abstract

Aim: The aim of the present investigation is evaluate the effect of L- Arginine supplements on the oxidative and nitrosative stress in liver of rats following acute exercise on a treadmill.

Method: Thirty two male Vistar rats (160-210 g) were randomly divided into four groups: control (C); L-Arg treatment (Arg); exhaustive exercise (E); and exhaustive exercise with L-Arg treatment (E + Arg). E and E+Arg groups performed a 1 hour acute running test, or until exhaustion on a treadmill (16-26 m/min) and Arg and E+Arg groups treated orally with the L-Arg (2% diet, for 30 days). Sampling was performed 1 hour after exercise. Nitric oxide production was evaluated by measuring nitrite formation, using Griess reagent. oxidant-Antioxidant's ratio was measured as TOS/ TAC levels.

Results: According to the means of the oxidant-antioxidant's balance (E)=0.91±0.12, (SC+Arg)=0.92 0.04 and (E+Arg)=0.91±0.09, TOS/TAC decreased in (E), (SC+Arg) and (E+Arg) groups compared with control group (SC); however, this decrease was not significant. And the results showed nitric oxide in (SC) group (mean=9.01 6.31) was more than other groups, but there was no significant change in there.

Conclusion: The results of the present study didn't show existence of oxidative-nitrosative stress and supplementation effect in muscle 1 h after acute exercise.

Keywords: Acute exercise, Oxidative-nitrosative stress, Oxidant-Antioxidant's ratio, Nitric oxide, L- Arginine.

1. Msc in Exercise Physiology, 2. Associate Professor, University of Isfahan, 3. Professor, Isfahan University of Medical Sciences, 4. PhD student in Pharmaceutical Biotechnology, 5. Veterinary medicine technician

*Email: kazemimasume@gmail.com